

## In vitro ERG に対する抗生剤の影響

## III. 家兎眼におけるアミノグリコシド系抗生剤の検討

金沢大学医学部眼科学講座 (主任: 米村大蔵教授)

大野 木 淳 二

(昭和61年5月20日受付)

アミノグリコシド系抗生剤のうち、硫酸カナマイシン (kanamycin monosulfate, KM) および硫酸ゲンタマイシン (gentamicin sulfate, GM) が網膜におよぼす急性障害を白色家兎 in vitro 網膜電図 (electroretinogram, ERG) の a 波, b 波, 律動様小波 (oscillatory potentials, OPs) および一部の実験では c 波をも指標として検討した。摘出眼杯 (網膜, 脈絡膜および強膜から成る) を2個の浸漬液容器間に装着した。浸漬液の pH を 8.0~8.2 に, その温度を  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  に維持した。KM 0.1 mM では, scotopic および photopic b 波ならびに OPs は有意に変化せず, 0.4 mM では photopic b 波および OPs は軽度 to 減弱し, これらの変化は可逆的であった。また, a 波および c 波は 0.4 mM でも変化しなかった。GM 23  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (約 0.05 mM) では scotopic および photopic b 波ならびに OPs は有意に変化せず, 46  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (約 0.1 mM) では photopic b 波および OPs は軽度 to 減弱した。また, a 波は GM 46  $\mu\text{g}/\text{ml}$  では変化せず, 184  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ではその振幅は増大し, 頂点潜時は軽度 to 延長した。c 波に関しては, GM 184  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ではその振幅は軽度 to 増大し, その頂点潜時はやや延長した。上記の変化は可逆的であった。家兎 ERG に対する最小作用濃度は, KM では 0.25 mM (約 150  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) であり, GM では 35  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (約 0.075 mM) であった。KM の ERG に対する最小作用濃度 (0.25 mM) は, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* などに対する KM の最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) を凌駕した。GM の ERG に対する最小作用濃度 (35  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) は, 眼科的に問題とされる *Staphylococcus aureus* などのグラム陽性菌や *Pseudomonas aeruginosa* などのグラム陰性桿菌に対する GM の MIC を十分に凌駕した。

**Key words** kanamycin monosulfate, gentamicin sulfate, albino rabbit, eye-cup, electroretinogram, minimum inhibitory concentration

アミノグリコシド系抗生剤 (aminoglycosides, AGs 剤) は, 歴史的にはストレプトマイシンおよび硫酸カナマイシン (kanamycin monosulfate, KM) などの抗結核剤から発して, 硫酸ゲンタマイシン (gentamicin sulfate, GM) およびトブラマイシンなどの優れた抗緑膿菌作用を持ち, しかも広域スペクトルを有する薬剤へと発展してきた。GM は, とくに *Staphylococcus*, *Streptococcus* および *Pseudomonas aeruginosa* (*Ps. aeruginosa*) に対して強い抗菌力を有し<sup>1)</sup>,

これまでに眼科領域においても眼内炎の治療などに実績を挙げている<sup>2)</sup>。

細菌性眼内炎の治療に際して, 抗生剤の全身および眼外局所 (点眼・結膜下注射など) の投与方法では抗生剤の硝子体内濃度が十分な値に到達しない事情から<sup>3)4)</sup>, 抗生剤の硝子体内注入法さらに硝子体手術と硝子体腔内抗生剤投与との併用療法が近年実用化されている<sup>5)6)</sup>。その際には隣接する網膜に対する抗生剤の毒性の有無やその程度が問題とされるが, 抗生剤の有

Abbreviations: AGs, aminoglycosides; CEZ, cefazolin; ERG, electroretinogram; GM, gentamicin sulfate; KM, kanamycin monosulfate; MBC, minimum bactericidal concentration; MIC, minimum inhibitory concentration; OPs, oscillatory potentials; PC-G, penicillin G.

効かつ無害な硝子体内濃度に関しては未だ定見がないのが現状である。抗生剤による網膜侵襲を評価するには、電気生理学的、組織病理学的あるいは組織化学的検索などがある。これらの多角的成績を総合的に勘案した上で、臨床応用に適切な抗生剤濃度を決定するのが望ましい。しかし、これらの指標の中でも電気生理学的検査法は極めて鋭敏なものであるという見解に加えて<sup>7,8)</sup>、電気生理学的検査法の有用な諸特質(第I<sup>9)</sup>、第II<sup>10)</sup>編)を考慮した上で、本編ではin vitro 網膜電図(electroretinogram, ERG)のa波、b波、律動様小波(oscillatory potentials, OPs)および一部の実験ではc波をも指標として、AGs剤のうちKMおよびGMが網膜におよぼす急性障害について検討することとした。

#### 材料および方法

体重2~3 kgの成熟白色家兎(家兎)9羽18眼を用いた。暗室内赤色光下にて摘出眼杯を作製した。眼杯の作製方法、浸漬液容器、灌流装置、灌流条件ならびにERGの記録条件および方法については第I編<sup>9)</sup>と同様であった。長山第II液<sup>11)</sup>を対照灌流液として用い、KM[硫酸カナマイシン明治<sup>®</sup> 1g(力価)、明治製菓]またはGM[試験研究用硫酸ゲンタマイシン原末 567  $\mu$ g(力価)/mg(含水物)、アメリカ・シェーリング社]を長山第II液に添加し、抗生剤添加液の灌流開始15分後に白色弱刺激光(網膜面照度  $1.0 \times 10^{-3}$  lux, 持続時間 500 msecの矩形波光)によるERGを、その3分後に白色強刺激光(網膜面照度  $3.3 \times 10^2$  lux, 持続時間 200 msecの矩形波光)によるERGを観察した。

網膜側浸漬液容器内浸漬液のpHおよび浸透圧をそれぞれpHメーター(堀場製作所, type F-7)および浸透圧計(Knauer社)にて実測した。浸漬液の温度を  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  に維持した。

本編ではKM濃度をmMで示し、GMの場合、ゲンタマイシンの分子量が449, 463および477と3種類存在し、各々が均等に含有されているとは限らないので、原則としてGM濃度を $\mu$ g(力価表示)/mlで示すこととした。また同時に、3種類のゲンタマイシンが均等に含まれると仮定した場合(平均のゲンタマイシン分子量を463として)のmMに換算したGM濃度を併記した。前編<sup>9,10)</sup>に準じて、抗生剤添加によるERG変化の程度をgrade 0~3に分類した。この程度分類にもとづき、各抗生剤のERGに対する最小作用濃度を検索した。

さらに、本編では、GM 184  $\mu$ g/ml(約0.4 mM)灌流18分後に家兎眼杯標本を10%ホルマリン固定、パラフィン包埋による切片とし、ヘマトキシリン・エ

オジン染色を施した後、光学顕微鏡にて鏡検した。

#### 成 績

網膜側浸漬液容器内浸漬液のpHおよび浸透圧は長山第II液ではそれぞれ8.0~8.2および  $300 \pm 3$  mOsmolであり、KMまたはGM灌流中においても本編で用いた濃度では長山第II液灌流中の実測値(上記)内にとどまった。

##### I. KM

9眼を用いた。いずれにおいても同様の成績を得た。その典型例を以下に示す。

b波に関しては、0.1 mMでは変化なく(図1)、0.4 mMでは強刺激光にて振幅は軽度には減弱したが、b波頂点潜時は有意には変化しなかった(図2 A, 2 B)。対照液の再灌流後にb波は元に復し、変化は可逆的であった(図2 A, 2 B)。

OPsに関しては、KM 0.1 mMでは変化なく(図3)、0.4 mMではO<sub>3</sub>, O<sub>4</sub>の振幅は軽度には低下し、O<sub>2</sub>以下の頂点潜時は延長したが、対照液の灌流にもどすとOPsは元に復した(図4)。すなわち、変化は可逆的であった(図4)。

a波に関しては、KM 0.4 mMまで振幅および頂点潜時は有意には変化しなかった(図1~4)。

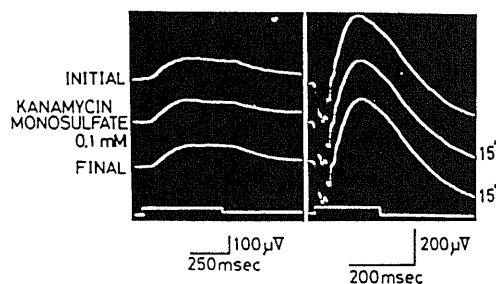


Fig. 1. Effect of kanamycin monosulfate (KM) on the ERG of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave and b-wave were unchanged by 0.1 mM KM. Responses in this figure were obtained from the same eye-cup. The upper-most traces show responses during initial perfusion with the control solution (Nagayama's solution). The second traces show responses during perfusion with an antibiotic-containing solution. The lowest traces show responses after the antibiotic was washed out by perfusion with Nagayama's solution. Numerals at the right indicate the time (minutes) after perfusion with Nagayama's solution or an antibiotic-containing solution. These hold in all figures in the present paper. The stimulus intensity was  $1.0 \times 10^{-3}$  lux in the left figure and  $3.3 \times 10^2$  lux in the right. Direct-coupled amplification.

また c 波に関しては, KM 0.4 mM では, その振幅および頂点潜時は有意に変わらなかった (図 2 C).

## II. GM

9 眼を用いた, いずれにおいても同様の成績を得た. その典型例を以下に示す.

b 波に関しては, GM 23  $\mu\text{g/ml}$  では振幅および頂点潜時は弱刺激光にても強刺激光にても変化しなかった (図 5). 46  $\mu\text{g/ml}$  では強刺激光にて b 波振幅は軽度低下したが, その頂点潜時は有意に変化しなかった (図 6). 184  $\mu\text{g/ml}$  では弱刺激光にても強刺激光にても b 波振幅は著しく低下したが, その頂点潜時は変化しなかった (図 7 A, 7 B). 上記の b 波振幅の変化は

対照液の再灌流後に軽減し, 変化はほぼ可逆的であった (図 6, 7 A, 7 B).

OPs に関しては, GM 23  $\mu\text{g/ml}$  では振幅および頂点潜時は有意に変化しなかった (図 8). 46  $\mu\text{g/ml}$  では OPs 振幅は軽度低下したが, OPs 頂点潜時は有意に変化しなかった (図 9). 184  $\mu\text{g/ml}$  では  $O_1 \sim O_4$  の振幅は低下し, OPs 頂点潜時はやや延長した (図 7 C). 上記の OPs 変化は対照液の再灌流後に軽減し, 変化は可逆的であった (図 7 C, 9).

a 波に関しては, GM 46  $\mu\text{g/ml}$  まで振幅および頂点潜時は変化しなかった (図 5, 図 6, 図 8, 図 9). 184  $\mu\text{g/ml}$  では a 波振幅は増大し, その頂点潜時は軽度

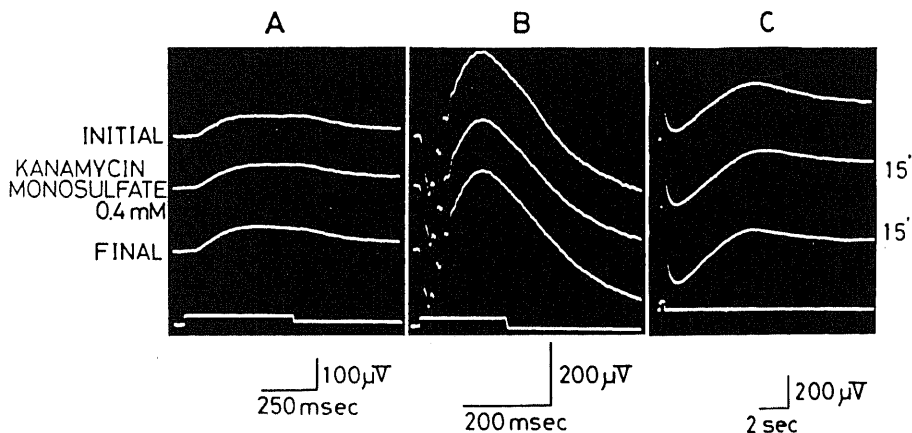


Fig. 2. Effect of kanamycin monosulfate (KM) on the ERG of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave (B), scotopic b-wave (A) and c-wave (C) were unchanged, while the photopic b-wave (B) was slightly suppressed by 0.4 mM KM. The stimulus intensity was  $1.0 \times 10^{-3}$  lux in A and  $3.3 \times 10^2$  lux in the others (B, C). Direct-coupled amplification.

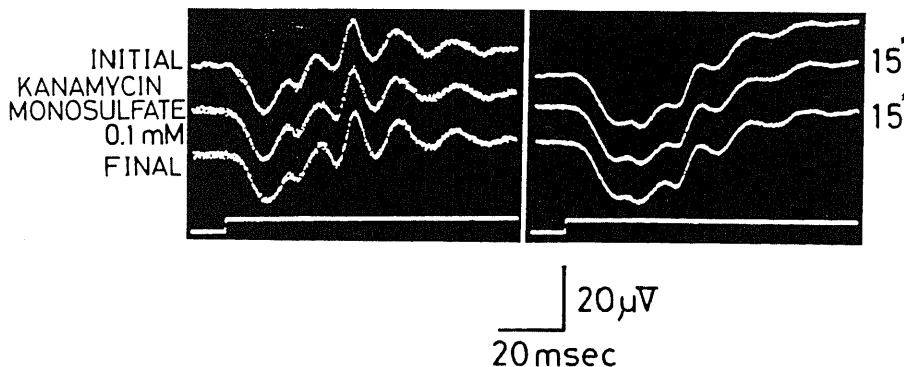


Fig. 3. Effect of kanamycin monosulfate (KM) on the oscillatory potentials of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The oscillatory potentials were not deteriorated by 0.1 mM KM. The stimulus intensity was  $3.3 \times 10^2$  lux. The amplifier time constant was 3 msec in the left figure and 20 msec in the right.

延長したが、これらの変化は対照液の再灌流後に軽減し、可逆的であった(図7)。

またc波に関しては、GM 184  $\mu\text{g/ml}$  ではその振幅は軽度増大し、その頂点潜時はやや延長した。対照液の灌流にもどすと、c波は元に復した。すなわち、変化は可逆的であった(図7D)。

### III. 光顕による網膜所見(図10)

GM 184  $\mu\text{g/ml}$  (約0.4 mM) 灌流18分後では、光顕的には視細胞層、外顆粒層、内顆粒層、神経細胞層および神経線維層に何ら異常を認めなかった。

### 考 察

本編で示したERG変化が抗生剤自体の影響に起因するものであるとみなすには、まず抗生剤添加による浸漬液のpHおよび浸透圧の変化の有無を確認してお

く必要がある。抗生剤(KMおよびGM)添加液灌流時の浸漬液容器内pHおよび浸透圧が対照灌流液での実測値の範囲内にとどまることから、本編における抗生剤添加によるERG変化はpHおよび浸透圧の変化に起因するものではないと解される。

次に、ERG記録時点において抗生剤が果たして所定の濃度で網膜に作用しているか否かが問題となる。KMおよびGMの溶解後の力価低下は本実験条件(温度 $31 \pm 1^\circ\text{C}$ , pH 8.0~8.2, 作用時間約20分)下では理論的にはほとんどありえない<sup>12)13)</sup>。さらに、市村ら<sup>14)</sup>が蛍光法を用いて灌流中のGMの網膜側浸漬液容器内での濃度推移を実測したところ、ERG記録時点(灌流開始15~18分後)では浸漬液容器内GM濃度は原液濃度C.とほぼ同程度であり、実測値はmass-balanceの式<sup>15)</sup>から導かれた理論値とよく対応した。またKMに関してはERG記録時点での抗生剤濃度は

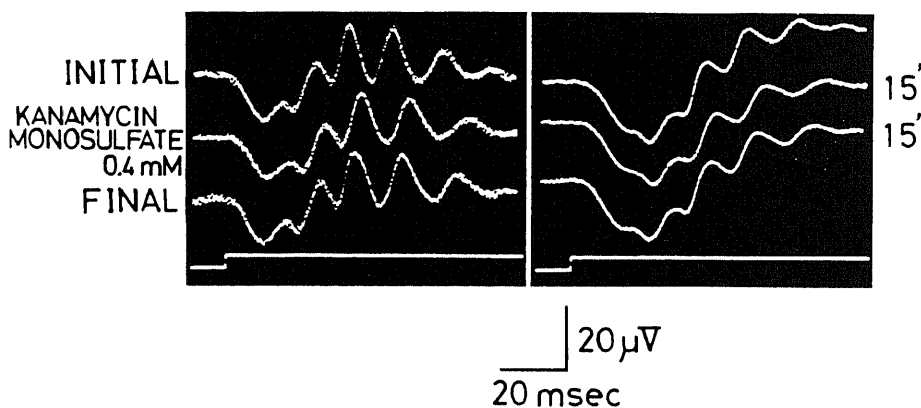


Fig. 4. Effect of kanamycin monosulfate (KM) on the oscillatory potentials of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The oscillatory potentials were slightly suppressed and their peak latencies were slightly delayed by 0.4 mM KM. Other conditions were the same as in Fig. 3.

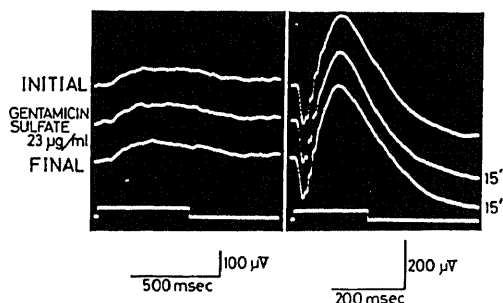


Fig. 5. Effect of gentamicin sulfate (GM) on the ERG of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The a- and b-waves were unchanged by 23  $\mu\text{g/ml}$  (approximately 0.05 mM) GM. Other conditions were the same as in Fig. 1.

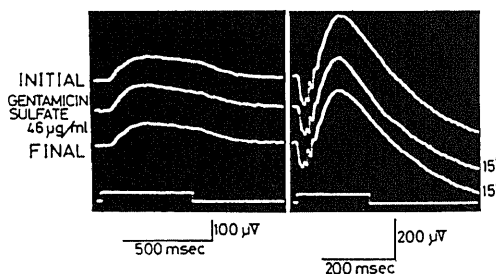


Fig. 6. Effect of gentamicin sulfate (GM) on the ERG of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave and scotopic b-wave were unchanged, but the photopic b-wave was slightly suppressed by 46  $\mu\text{g/ml}$  (approximately 0.1 mM) GM. Other conditions were the same as in Fig. 1.

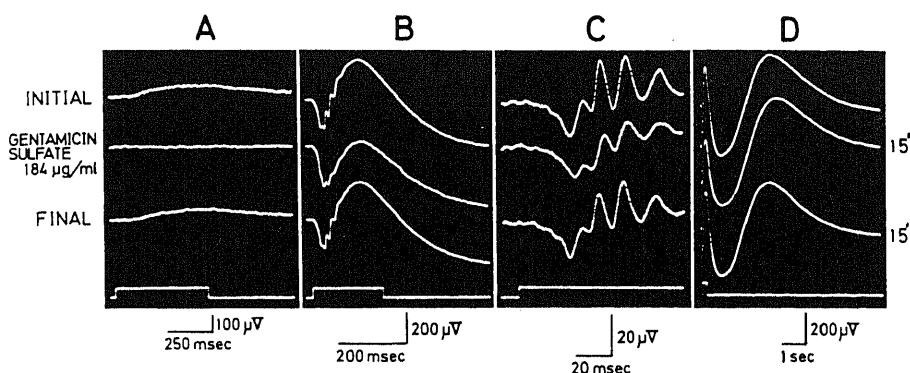


Fig. 7. Effect of gentamicin sulfate (GM) on the ERG of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The b-wave was greatly reduced (A, B); the oscillatory potentials were suppressed and their peak latencies were delayed by 184  $\mu\text{g/ml}$  (approximately 0.4 mM) GM (C). The a-wave and c-wave were slightly enhanced and their peak latencies were slightly delayed by 184  $\mu\text{g/ml}$  GM (B, D). The stimulus intensity was  $1.0 \times 10^{-3}$  lux in A and  $3.3 \times 10^2$  lux in the others (B, C, D). Direct-coupled amplification was used in A, B and D. The amplifier time constant was 3 msec in C.

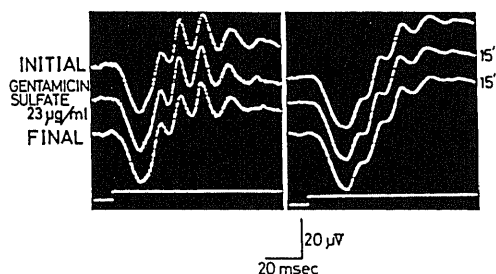


Fig. 8. Effect of gentamicin sulfate (GM) on the oscillatory potentials of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. The oscillatory potentials were not deteriorated by 23  $\mu\text{g/ml}$  (approximately 0.05 mM) GM. Other conditions were the same as in Fig. 3.

実測されていないが、灌流系および灌流条件が同一であることから、GMと同様な濃度推移を示すであろうと充分に推定される。したがって、この推定が許容されるならば、ERG記録時点において各濃度のKMおよびGMはほとんど失活しないままで摘出家兎網膜に作用したとみなしてよい。

本実験の目的は網膜に対して無害な抗生剤濃度を検索することにある。これまでの網膜電気現象に関する基礎的研究より、本編で検討したERGの各成分すなわちa波、b波、OPsおよびc波は、それぞれ主に視細胞<sup>16)</sup>、Müller細胞<sup>17)18)</sup>、postsynapticな神経細胞<sup>19)</sup>および網膜色素上皮<sup>20)</sup>の活動を反映するとみなしてよい。また第I<sup>9)</sup>、II<sup>10)</sup>編同様、各抗生剤の家兎ERGに対する最小作用濃度を、ERG変動の程度が10%以内

にとどまる (grade 0に相当する) 最高濃度とERG振幅が20%以上40%未満減弱する (grade 1に相当する) 最低濃度との中間値と定め、これを指標としてKMおよびGMが網膜におよぼす急性障害を検討する。本編でもa波、b波、OPsおよびc波の指標のうち、とくにb波およびOPsが抗生剤に対し高い感受性を示した。本編で用いたKMおよびGMによるb波の変化は弱光刺激にても強光刺激にてもほぼ同様な傾向(ともに減弱)を呈した。この点に鑑み、b波およびOPsの振幅ならびに頂点潜時を指標として各濃度のKMおよびGMによる変化の有無や程度を表1に示す。最初にKMに関して述べると、KM 0.4 mMではa波およびc波は変化しなかった(図2)ので、この濃度では視細胞<sup>16)</sup>および網膜色素上皮<sup>20)</sup>には認めるべき変化がおよんでいないと解される。しかし、本剤0.4 mMではb波およびOPsは軽度減弱した(図2、図4)ので、これらのERG成分の発生に与関する網膜内層<sup>17)~19)</sup>においてはわずかな障害が惹起されたことがわかる。また本編の電気生理学的知見から、KMが網膜に与える障害の度合い(KMのERGに対する最小作用濃度0.25 mM、約150  $\mu\text{g/ml}$ )は、後記するGMのそれ(GMのERGに対する最小作用濃度約0.075 mM、35  $\mu\text{g/ml}$ )に比べ低いようにみえる。

次にGMに関して考察する。GMはペニシリンG (penicillin G, PC-G) (第I編<sup>9)</sup>) およびセファゾリン (cefazolin, CEZ) (第II編<sup>10)</sup>) に比べてb波およびOPsの変化を比較的低濃度 (46  $\mu\text{g/ml}$ 、約0.1 mM) (図6、図9)で引き起こした。ゆえに、b波およびOPsを指標とした場合、GMが網膜に与える急性障害は

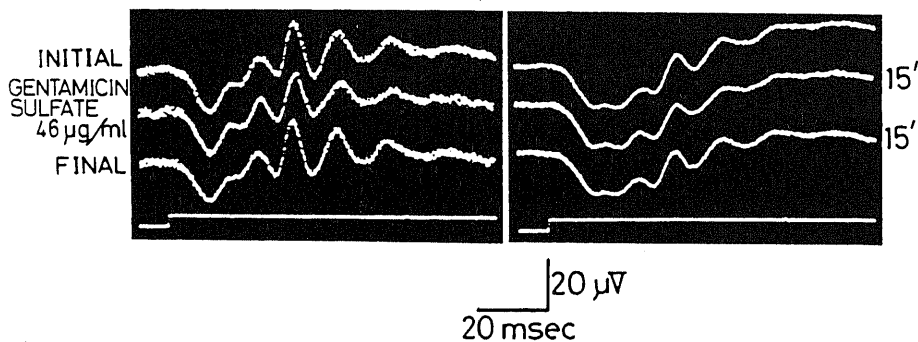


Fig. 9. Effect of gentamicin sulfate (GM) on the oscillatory potentials of the in vitro eye-cup of the albino rabbit. GM of  $46 \mu\text{g/ml}$  (approximately  $0.1 \text{ mM}$ ) slightly suppressed the oscillatory potentials. Other conditions were the same as in Fig. 3.

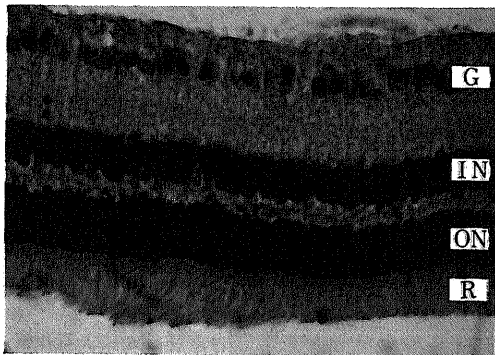


Fig. 10. The retina of the albino rabbit 18 minutes after perfusion with  $184 \mu\text{g/ml}$  (approximately  $0.4 \text{ mM}$ ) gentamicin sulfate. Hematoxylin-eosin stains. Magnification,  $\times 200$ . Explanation in the text. G, ganglion cell layer; IN, inner nuclear layer; ON, outer nuclear layer; R, receptor layer.

PC-G<sup>9</sup>およびCEZ<sup>10</sup>のそれらに比べ強いようにみえる。またGM  $184 \mu\text{g/ml}$ 添加時のERG変化(図7)は、PC-G<sup>9</sup>およびCEZ<sup>10</sup>でみられたような選択的なOPs減弱を示さない。したがって、GMによる網膜侵襲は、より広範囲な網膜structureにおよぶものであらうと示唆される。本編の急性実験ではGMはとくにb波を著しく減弱させたことから、GMを眼内投与した際には急性期にはb波発生に関する網膜内層の機能障害が最も惹起されやすいと考える。したがって、この時期にはERG成分のうちとりわけb波を指標として検討するのが合理的であるといえる。また、GM  $184 \mu\text{g/ml}$  (約  $0.4 \text{ mM}$ ) ではc波振幅は軽度増大したものの、その頂点潜時は延長した(図7D)ので、c波の構成に関与する部位での何らかの機能障害が惹起された

と推論される。さらに、GMがlysosomes<sup>21)~23)</sup>およびメラニン色素<sup>24)25)</sup>に高い親和性を有することならびに特に網膜色素上皮細胞にはlysosomes<sup>26)27)</sup>およびメラニン色素が高濃度に存在することから、慢性実験ではGMが網膜におよぼす毒性を評価する指標としてはc波も重要であるかも知れない。また慢性実験を取り扱う場合には網膜にメラニン色素を有する有色動物を対象とすべきであるといわれる。しかし、鳥崎ら<sup>28)</sup>の有色家兎を用いた慢性実験によると、GM  $78.7 \mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$  硝子体内注入 ( $46 \mu\text{g/ml}$ , 約  $0.1 \text{ mM}$ ) が注入後65日目においてもc波を変化させなかったという。本編での成績および鳥崎ら<sup>28)</sup>の結果を合わせ考えると、GM  $35 \mu\text{g/ml}$  (約  $0.075 \text{ mM}$ ) では網膜色素上皮は障害されないか、あるいはあったとしても極く軽微に障害されるにすぎないと推定される。

以上、本編での成績をもとに、KMおよびGMによる網膜への影響について検討した。KMではb波およびOPsはともに減弱したが、GMではとくにb波が著しく減弱した。また、in vitro ERGを指標とする限りGMの網膜侵襲の程度はKMのそれを凌駕した。なお、他のAGs剤(例えば、トブラマイシン、アミカシンなど)に関しても、それらの網膜侵襲を電気生理学的検査法を指標として検討中である。

Peymanら<sup>29)</sup>の報告から推して、硝子体内に投与された抗生剤は15分後には網膜色素上皮細胞間のtight junctionまで達すると解されるが、硝子体内に投与されたGMは初期には最も高濃度に視神経節細胞へ影響する可能性が存在する。またAGs剤の副作用の一つとして、第8脳神経障害が発現しやすい<sup>30)~32)</sup>ことを想起すれば、AGs剤による網膜での神経系統への毒性が憂慮されるかも知れない。しかし、ERGは特殊な方法<sup>33)</sup>を用いない限り視神経節細胞の活動を反映しない

とされるので、本編の ERG 成績だけでは GM の視神経細胞への影響に論及できない。しかし、鳥崎ら<sup>28)</sup>は有色家兎を用いた慢性実験にて、GM 78.7  $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$  硝子体内注入 (46  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 約 0.1 mM) 後 30 日経過した時点においても、視覚誘発電位は有意に変化しなかったと報告した。ゆえに、本編での成績および鳥崎ら<sup>28)</sup>の報告を勘案すると、GM 35  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (約 0.075 mM) では視神経細胞を含め網膜には本質的に影響がないのではないかと推定される。

一般的に薬理作用はまず組織・細胞の機能変化の形で惹起され、作用濃度が限度を越えなかったり、作用時間が短い場合に限り、多くの場合では可逆的である。しかし、薬物が高濃度であったり、また作用の持続時間が長い時には機能障害が不可逆的となり、形態学的な変化および変性を惹起することになる。従来、網膜 in vitro 実験に際し、その機能的変化および形態学的変化の両面から検討を加え、これらの成績に相関性を認めた報告が幾つかある<sup>34)35)</sup>。本編では臨床応用に際する抗生剤の安全量の評価を目的とするので、より鋭敏に変化をとらえ、しかも臨床的他覚検査法としても有用であり、容易に実施できるため眼科診療の一般検査の一つとみなされるまでに普及した電気生理学的検査法 (ERG) に着目した。実際 GM 184  $\mu\text{g}/\text{ml}$  灌流 15~18 分後では有意な ERG 変化が検出され、しかもこれらの変化はいずれも可逆的であった (図 7)。さらに本編では上記の意見<sup>34)35)</sup>を考慮した上で、本実験での GM 184  $\mu\text{g}/\text{ml}$  添加による ERG 変化が果たして形態学的変化を伴うか否かを検討した。灌流実験に使用後の眼杯から組織標本を作製したという本条件下では人工的網膜剥離を余儀なくされ、網膜色素上皮に關す

る組織学的評価は不可能であったが、光学的には視細胞層、外顆粒層、内顆粒層、神経細胞層および神経線維層に何ら異常を認めなかった (図 10)。ゆえに本編での GM 添加による可逆的な ERG 変化 (図 5~9) は網膜の一過性の機能障害を反映するものであろう。

一方、鳥崎ら<sup>28)</sup>の成績から、GM 236  $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$  硝子体内注入 (138  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 約 0.3 mM) では注入後 14 日目で in vivo ERG (a 波, b 波, OPs および c 波) は消失したという。ゆえに比較的高濃度 (138  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 約 0.3 mM) の GM は網膜に対して重篤な遅発性の慢性毒性を惹起するのではないかと示唆されるので、この濃度の GM の眼内投与は避けられるべきであらう。

周知の如く、KM, GM などの AGs 剤では耳毒性<sup>30)~32)</sup>および腎毒性などの副作用の発現が問題とされてきた。こうした AGs 剤による耳毒性の特異性は、AGs 剤が耳内液に蓄積されやすい<sup>36)37)</sup>点ばかりでなく、聴器感覚有毛細胞が解剖学的に疎な構造で存在し侵襲に暴露されやすい点から説明されるかも知れない。いずれにせよ、こうした事情<sup>30)~32)</sup>から耳鼻科領域では AGs 剤による耳毒性の発現機構の解明が急務となっており、この点に関して従来多くの基礎的研究がなされてきた<sup>38)~44)</sup>。とりわけ Sato<sup>38)</sup>は 6 種類の AGs 剤によるモルモットの聴器毒性を走査型電子顕微鏡を用いて調べたところ、GM による耳毒性の程度が最も強く、KM によるそれを凌駕すると指摘した。聴器官の構造的特異性から個々の AGs 剤が実際の程度の濃度で聴器感覚細胞に作用しているかは明確に把握できないが、Sato<sup>38)</sup>の成績と本編での成績 (ERG を指標とした場合 GM の網膜障害の程度が KM のそれに比べ強い) とで合い通じる傾向を得たことを指摘したい。

Table 1. Effects of Aminoglycosides on the b-wave and the oscillatory potentials (OPs) of the albino rabbit

| Antibiotic            | Concentration (mM) |              | 0.05 | 0.1 | 0.4 |
|-----------------------|--------------------|--------------|------|-----|-----|
|                       | ERG                |              |      |     |     |
| Kanamycin monosulfate | b-wave             | Amplitude    | →    | →   | ↓   |
|                       |                    | Peak latency | N    | N   | N   |
|                       | OPs                | Amplitude    | →    | →   | ↓   |
|                       |                    | Peak latency | N    | N   | D   |
| Gentamicin sulfate    | b-wave             | Amplitude    | →    | ↓   | ↓↓  |
|                       |                    | Peak latency | N    | N   | N   |
|                       | OPs                | Amplitude    | →    | ↓   | ↓↓  |
|                       |                    | Peak latency | N    | N   | D   |

→, amplitude was within 90—110% of the control level; ↓, amplitude decreased to 61—80% of the control level; ↓↓, amplitude decreased to 31—60% of the control level; ↓↓↓, amplitude decreased to 30% of the control level or less; N, peak latency was within the normal limit; D, peak latency was delayed.

KM および GM が網膜におよぼす毒性に関する諸報告<sup>845)~52)</sup>と本編での成績を比較・検討する。以下硝子体内注入実験では家兎、猿および人の硝子体容量をそれぞれ 1.5 ml, 3.0 ml および 4.0 ml として、注入された抗生剤が均等に硝子体中に拡散したものと仮定した場合の抗生剤の平均硝子体内濃度を併記する。まず、KM に関して、Peyman ら<sup>45)</sup>は白色家兎を用いた慢性実験で KM 0.5 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (約 0.5 mM) が *in vivo* ERG (a 波および b 波) および組織所見 (光顕) でも網膜に何ら異常を来さなかったと報告した。さらに、Bennett ら<sup>46)</sup>は猿を用いた慢性実験で KM 2 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (約 1 mM) によっても *in vivo* ERG (a 波および b 波) ならびに光顕所見に異常が認められないといい、前述の Peyman ら<sup>45)</sup>の報告を考慮した上で、臨床応用には KM 0.5 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (約 0.2 mM) が安全であろうと結論している。上記の Peyman ら<sup>45)</sup>および Bennett ら<sup>46)</sup>の報告では一因として硝子体の存在が shock absorber として働いているとも考えられ、したがって彼らが示した安全値は本編での KM の家兎 ERG に対する最小作用濃度 (0.25 mM) に比べやや高い値となったと推定される。また Bennett ら<sup>46)</sup>は臨床応用に際しては KM の硝子体内注入量として 0.5 mg/0.1 ml (約 0.2 mM) を推奨するが、この値は本編の成績 (KM の ERG に対する最小作用濃度 0.25 mM) からみれば安全に許容されるのではないかと推断される。

次に GM についてみれば、国外における報告はその安全とみなされる硝子体内濃度値から大きく 2 派の見解に分かれる。すなわち、GM の安全な硝子体内注入量を、1) 0.05 mg/0.1 ml (家兎では 33  $\mu$ g/ml, 約 0.071 mM) であるとする Forster<sup>847)</sup>派と、2) 0.5 mg/0.1 ml (家兎では 330  $\mu$ g/ml, 約 0.71 mM) まで許容すると提言する Peyman<sup>46)48)49)</sup>派である。まず、Forster 派の意見に触れよう。Zachary ら<sup>8)</sup>は有色家兎を用い *in vivo* ERG (b 波)、検眼鏡的所見および光顕所見を指標として、商用 GM (Garamycin®) による慢性 (GM 投与後 11 週までの) 毒性を検討したところ、GM 0.1~0.2 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (67~130  $\mu$ g/ml, 約 0.14~0.28 mM) が十分に許容されたと報告した。さらに、この報告<sup>8)</sup>において GM (Garamycin®) 0.05 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (33  $\mu$ g/ml, 約 0.071 mM) が *in vivo* ERG (b 波) および光顕所見に異常を呈さなかったと述べた。また、Palimeris ら<sup>47)</sup>は有色家兎を用い検眼鏡的所見、*in vivo* ERG (b 波) および組織所見を指標として、商用 GM (Garamycin®) の硝子体内注入が網膜におよぼす慢性 (GM 投与後 3 か月までの) 毒性を検討した結果、GM 0.05 mg/0.1

ml 硝子体内注入 (33  $\mu$ g/ml, 約 0.071 mM) は安全であったと指摘した。さらに、臨床応用に際しては眼内炎が重篤な病態を呈することを考慮に入れば、GM 0.1 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (25  $\mu$ g/ml, 約 0.05 mM) が適切であろうと述べた<sup>47)</sup>。ゆえに、本編で示した GM の家兎 ERG に対する最小作用濃度 (35  $\mu$ g/ml, 約 0.075 mM) は、Forster<sup>847)</sup>派の上記の安全値 (有色家兎を用いた慢性実験で *in vivo* ERG および光顕所見がともに異常を示さない GM 濃度 33  $\mu$ g/ml) にほぼ一致することに注目したい。また、本編の成績と Zachary ら<sup>8)</sup>および Palimeris ら<sup>47)</sup>の成績を勘案すると、GM 35  $\mu$ g/ml は急性相ばかりでなく、慢性相においても網膜に毒性を与えず許容されるのではないかと推定される。

他方、Peyman 派の報告として、Peyman ら<sup>48)</sup>は有色家兎を用いた慢性実験で組織所見および ERG を指標として GM 0.5 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (330  $\mu$ g/ml, 約 0.71 mM) が安全に許容されたと報告した。さらに Bennett ら<sup>46)</sup>は猿を用いた慢性実験で GM 1.0 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (330  $\mu$ g/ml, 約 0.71 mM) でも組織所見および ERG 上何ら異常が認められなかったと述べ、Peyman ら<sup>48)</sup>の意見を考慮した上で、GM 0.5 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (130  $\mu$ g/ml, 約 0.27 mM) をもって臨床上の適量とした<sup>46)</sup>。Peyman 派が安全と唱える GM 硝子体内注入量 0.5 mg/0.1 ml (家兎 330  $\mu$ g/ml (約 0.71 mM), 猿 170  $\mu$ g/ml (約 0.36 mM) および人 130  $\mu$ g/ml (約 0.27 mM)) は、本編で示した GM の家兎 ERG に対する最小作用濃度 (35  $\mu$ g/ml, 約 0.075 mM) を上まわる値ではあるが、Cunha-Vaz ら<sup>53)</sup>および森田<sup>54)</sup>の所論を考慮に入れば、両者の値における一桁程度の差はある程度許容されるかも知れない。また、Payman ら<sup>49)</sup>は白色家兎に硝子体手術を施行し、硝子体置換を GM 添加生理食塩水で行い、GM が網膜毒性を来さない至適濃度は 8  $\mu$ g/ml であると指摘した。彼ら<sup>49)</sup>の実験では GM 濃度が 25  $\mu$ g/ml 以上になると組織学的に網膜への障害が生じたという。彼ら<sup>49)</sup>が組織学的に網膜障害を認めた GM の最低濃度 (25  $\mu$ g/ml) は本編における GM が ERG を変化させない最高濃度 (23  $\mu$ g/ml) に近似し、両者間に一見矛盾があるように見える。しかし、Peyman ら<sup>49)</sup>が GM 添加の溶媒として眼内灌流液としては不適切<sup>55)~59)</sup>と実証された生理食塩水を用いたのに対して、本編では、網膜機能維持上優れた長山第 II 液<sup>11)</sup>を用いていることから、両者での有毒濃度に関する結論の不一致が一因として説明されるかも知れない。

また最近の GM による網膜毒性に関する報告として、D'Amico ら<sup>22)</sup>によれば、有色家兎を用いた慢性実



験において、GM (Garamycin®) 0.2 mg/0.1 ml 硝子体内注入 (130 µg/ml, 約 0.27 mM) が視細胞および網膜色素上皮において電顕的に最小限の変化 (異常細胞の出現) を引き起こしたという点を追記しておく。

当教室での GM に関する in vivo 実験について述べると、米村ら<sup>50)</sup>の急性実験および鳥崎ら<sup>28)</sup>の慢性実験 (硝子体内注入後 14 日まで) によれば、白色および有色家兎の硝子体内に GM 含有液を注入し、その網膜毒性を in vivo ERG (a 波, b 波および OPs) を指標として検討したところ、GM 78.7 µg/0.1 ml 硝子体内注入 (46 µg/ml, 約 0.1 mM) は上記の ERG 成分を指標とする限りでは網膜にほとんど影響を与えなかった。また輪島ら<sup>51)</sup>は GM を含む硝子体灌流液を用いて白色および有色家兎に硝子体手術を施行し、in vivo ERG (a 波, b 波および OPs) を指標として GM の慢性 (術後 14 日までの) 網膜毒性を検討した結果、GM 46 µg/ml (約 0.1 mM) は in vivo ERG (a 波, b 波および OPs) の変化を惹起しなかったと述べた。彼ら<sup>28)50)51)</sup>の GM に関する安全値は本編のそれと同程度であり、したがって本編の成績を支持するものであるとみなしてよい。

次に、GM に関する臨床応用例について述べる。個々の症例で推奨・使用されている GM 投与量によって 3 派に大別される。すなわち、1) Forster<sup>5)60)~63)</sup>派、2) Peyman<sup>2)5)64)~68)</sup>派および 3) 両者の中間<sup>69)70)</sup>派である。細菌性眼内炎の治療に際して用いた GM の硝子体内注入量は、1) Forster<sup>5)60)~62)</sup>派では 0.1 mg/0.1 ml (25 µg/ml, 約 0.05 mM)、2) Peyman<sup>2)64)65)67)</sup>派では 0.4 mg/0.1 ml (100 µg/ml, 約 0.2 mM) および 3) 中間<sup>69)70)</sup>派では 0.2~0.4 mg/0.1 ml (50~100 µg/ml, 約 0.1~0.2 mM) である。また細菌性眼内炎の治療で用いた GM の硝子体灌流液添加濃度は Forster<sup>63)</sup>派では 20 µg/ml であるのに対して、Peyman<sup>6)64)65)~68)</sup>派では 8 µg/ml である。さらに、Peyman<sup>64)</sup>派が予防的投与方法として推奨する GM の硝子体内注入量および眼内灌流液添加濃度はそれぞれ 0.04 mg/0.1 ml (10 µg/ml, 約 0.02 mM) および 4 µg/ml である。以上、これら 3 派の報告において GM 投与量はまちまちであったが、いずれもある程度良好な臨床結果を得ている。しかし、本編の成績を考慮すると、とくに Forster<sup>5)60)~63)</sup>派の示す GM 濃度が、GM 自体による網膜毒性を誘起せずに治療に奏効した点に着目すべきである。

実地応用に際して本編で安全とみなされる KM および GM の最小作用濃度 [それぞれ 0.25 mM (約 150 µg/ml) および 35 µg/ml (約 0.075 mM)] は果たして原因菌に対して有効に抗菌力を発揮しうるか否かが重要な論点になる。そこで、以下文献的に若干の菌株に

対する KM および GM の最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC) (µg/ml) を挙げ、上記の KM および GM の ERG に対する最小作用濃度と比較・検討する。大石ら<sup>1)</sup>によると、KM の MIC (µg/ml) は例えば *Staphylococcus aureus* (*Staph. aureus*)、*Streptococcus pneumoniae* (*Str. pneumoniae*) および *Ps. aeruginosa* ではそれぞれ 5~10, 10~80 および >100 である。また中沢ら<sup>71)</sup>によれば *Staphylococcus epidermidis* (*Staph. epidermidis*) に対する KM の MIC (µg/ml) は 0.78 である。これらの値に準拠すると、KM の ERG に対する最小作用濃度 (0.25 mM, 約 150 µg/ml) (表 1) と上記の MIC との比は *Staph. aureus*, *Str. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa* および *Staph. epidermidis* ではそれぞれ 15~30, 2~15, <1.5 および 190 となる。すなわち、KM 0.25 mM (表 1) は、*Staph. aureus*, *Str. pneumoniae* などに対してはある程度殺菌力を期待できるが、*Ps. aeruginosa* に対してはほぼ無効であるといえる。GM の MIC (µg/ml) は、大石ら<sup>1)</sup>によると、例えば *Staph. aureus*, *Str. pneumoniae* および *Ps. aeruginosa* に対してはそれぞれ 0.025~0.5, 2.5~10 および 0.1~1 である。また中沢ら<sup>71)</sup>によれば *Staph. epidermidis* に対する GM の MIC (µg/ml) は 0.1 である。これらの値に則すると、GM の ERG に対する最小作用濃度 (35 µg/ml, 約 0.075 mM) (表 1) と上記の MIC との比は、*Staph. aureus*, *Str. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa* および *Staph. epidermidis* ではそれぞれ 70~1400, 4~14, 35~350 および 350 となる。さらに近藤<sup>72)</sup>は、*Ps. aeruginosa* に対する GM の MIC および最小殺菌濃度 (minimum bactericidal concentration, MBC) について報告し、GM の MIC<sub>80</sub> (*Ps. aeruginosa* 菌株の 80% の発育を阻止する最小薬剤濃度) および MBC<sub>80</sub> (その 80% の殺菌をなす最小薬剤濃度) をともに 12.5 µg/ml であると述べた。近藤<sup>72)</sup>の報告に従えば、GM の ERG に対する最小作用濃度 (35 µg/ml, 約 0.075 mM) は *Ps. aeruginosa* に対する MIC<sub>80</sub> および MBC<sub>80</sub> (ともに 12.5 µg/ml) を凌駕する (約 3 倍) といえる。ゆえに、GM 35 µg/ml (約 0.075 mM) (表 1) は *Staph. aureus*, *Str. pneumoniae*, *Ps. aeruginosa* などの眼科的に問題となる菌株に対して安全にしかも有効に抗菌力を発揮すると推定する。

細菌性眼内炎の治療に際して抗生剤の高い硝子体内濃度を得る目的で、抗生剤の硝子体内注入法さらに硝子体手術と抗生剤の眼内投与との併用療法が近年臨床応用され、これらの治療法が奏効した症例が報告されている<sup>2)5)6)60)~70)</sup>。しかし、抗生剤の有効かつ無害な硝子体内濃度に関して未だ定見がないのが実状である。

著者の成績にもとづけば、硝子体手術時の眼内灌流液に添加して用いる場合には、GM の硝子体内濃度が 35  $\mu\text{g/ml}$  (約 0.075 mM) を越えないように注意すべきである。さらに眼内感染が確定している場合には抗生剤の眼内濃度を高める目的で、局所投与を主体とした上で、林ら<sup>73)</sup>の報告から推して、GM の筋肉内投与法を併用するのが望ましいかも知れない。また抗菌スペクトルの補充および抗菌力の増大を目的として、GM と他剤 (ペニシリン系、セファロスポリン系など) との併用療法<sup>5)</sup>を実施するのがより効果的である。

要約するに、KM の ERG に対する最小作用濃度は 0.25 mM (約 150  $\mu\text{g/ml}$ ) であり、この濃度は *Staphylococcus*, *Streptococcus* などに対する MIC を凌駕する。また、GM の ERG に対する最小作用濃度は 35  $\mu\text{g/ml}$  (約 0.075 mM) であり、この濃度は *Staphylococcus*, *Streptococcus* および *Pseudomonas* に対する MIC を凌駕する。くわえて、KM および GM は殺菌的に作用し、局所投与も可能である。さらに、Peyman ら<sup>45)48)</sup>の報告から推して、KM および GM の硝子体内投与に伴う眼内組織毒性を評価するに当たっては網膜毒性に関する情報が水晶体毒性のそれより肝要であると判断される。ゆえに、上記の諸点に鑑み、とくに GM は感染予防や感染治療の目的に硝子体手術における硝子体灌流液に加えられるべき抗生剤であるとみなしてよい。

### 結 論

KM および GM が網膜におよぼす急性障害を、家兎摘出眼杯 ERG の a 波、b 波、OPs および一部の実験では c 波をも指標として検討し、下記の結果を得た。

1) KM 添加の場合、0.1 mM では b 波および OPs は変化せず、0.4 mM では a 波および c 波は変化しなかったが、b 波および OPs は軽度で減弱した。b 波および OPs に対する KM の最小作用濃度は 0.25 mM であった。

2) GM 添加の場合、b 波および OPs は 23  $\mu\text{g/ml}$  では変化せず、46  $\mu\text{g/ml}$  では軽度で減弱した。184  $\mu\text{g/ml}$  では特に b 波は著しく減弱したが、a 波および c 波の振幅が軽度で増大し、a 波および c 波の頂点潜時がやや延長した。b 波および OPs に対する GM の最小作用濃度は 35  $\mu\text{g/ml}$  (約 0.075 mM) であった。

3) GM 184  $\mu\text{g/ml}$  添加では、可逆的な ERG 変化を認めたが、光学的には異常を検出なかった。

4) 広域スペクトルを有する GM は感染予防や感染治療の目的に硝子体手術時における眼内灌流液に加えられるべき抗生剤であるとみなされる。

### 謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師米村

大蔵教授に深甚の謝意を捧げます。また御教示、御援助を賜りました河崎一夫助教授、本学附属病院中央検査部松原藤継教授ならびに本学附属病院薬剤部市村藤雄教授、出口芳春技官に深謝します。また浸漬液容器の作製にご協力下さいました本学工作係水野清澄技官に感謝いたします。

### 文 献

- 1) 大石正夫・西塚憲次・本山まり子・小川 武: 眼科領域における KW-1062 の基礎的、臨床的検討。Chemotherapy, 25, 2282-2287 (1977).
- 2) Peyman, G. A., Vastine, D. W., Crouch, E. R. & Herbst, R. W. Jr.: Clinical use of intravitreal antibiotics to treat bacterial endophthalmitis. Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol., 78, 862-866 (1974).
- 3) Rubinstein, E., Goldfarb, J., Keren, G., Blumenthal, M. & Treister, G.: The penetration of gentamicin into the vitreous humor in man. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 24, 637-639 (1983).
- 4) Furgiuele, F. P.: Ocular penetration and tolerance of gentamicin. Am. J. Ophthalmol., 64, 421-426 (1967).
- 5) Gelender, H.: Bacterial endophthalmitis following cutting of sutures after cataract surgery. Am. J. Ophthalmol., 94, 528-533 (1982).
- 6) Diamond, J. G.: Intraocular management of endophthalmitis. A systematic approach. Arch. Ophthalmol., 99, 96-99 (1981).
- 7) Graham, R. O., Peyman, G. A. & Fishman, G.: Intravitreal injection of cephaloridine in the treatment of endophthalmitis. Arch. Ophthalmol., 93, 56-61 (1975).
- 8) Zachary, I. G. & Forster, R. K.: Experimental intravitreal gentamicin. Am. J. Ophthalmol., 82, 604-611 (1976).
- 9) 大野木淳二: In vitro ERG に対する抗生剤の影響。I. 家兎眼におけるペニシリン系抗生剤の検討。十全医会誌, 95, 468-480 (1986).
- 10) 大野木淳二: In vitro ERG に対する抗生剤の影響。II. 家兎眼におけるセファロスポリン系抗生剤の検討。十全医会誌, 95, 481-490 (1986).
- 11) 長山理三郎: 摘出家兎網膜からの ERG の誘導。日眼, 73, 1900-1908 (1969).
- 12) Maeda, K., Ueda, M., Yagishita, K., Kawaji, S., Kondo, S., Murase, M., Takeuchi, T., Okami, Y. & Umezawa, H.: Studies of kanamycin. J. Antibiotics, Series A., 10, 228-231 (1957).
- 13) 西村治雄: 硫酸ゲンタマイシンの各種 pH にお

ける各種温度条件。私信。

- 14) 市村藤雄・出口芳春・古瀬 裕・大野木淳二・米村大蔵・河崎一夫・田辺譲二：In vitro 実験における網膜側チェンバー内での抗生剤の濃度推移。高速液体クロマトグラフィー法による検討。眼臨, 80, 131 (1986).
- 15) 米村大蔵・河崎一夫・大野木淳二・市村藤雄・出口芳春・古瀬 裕：白色家兎 in vitro に対する 2, 3 のペニシリン系抗生剤の影響。眼紀, 35, 399-406 (1984).
- 16) Brown, K., Watanabe, K. & Murakami, M.: The early and late receptor potential of monkey cones and rods. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 30, 457-482 (1965).
- 17) 柳田 隆：網膜内 K<sup>+</sup> 注入法による b 波発生源の研究。日眼, 87, 289-299 (1983).
- 18) Miller, R. F. & Dowling, J. E.: Intracellular responses of the Müller (glial) cells of mudpuppy retina. Their relation to the b-wave of the electroretinogram. J. Neurophysiol., 33, 323-341 (1970).
- 19) Yonemura, D. & Kawasaki, K.: Electro-physiological study on activities of neural and non-neural retinal elements in man with reference to its clinical application. Jpn. J. Ophthalmol., 22, 195-213 (1978).
- 20) Steinberg, R. H., Schmidt, R. & Brown, K. T.: Intracellular responses to light from cat pigment epithelium. Origin of the electroretinogram c-wave. Nature, 227, 728-730 (1970).
- 21) Libert, J., Ketelbant-Balasse, P. E., Van Hoof, F., Aubert-Tulkens, G. & Tulkens, P.: Cellular toxicity of gentamicin. Am. J. Ophthalmol., 87, 405-411 (1979).
- 22) D'Amico, D. J., Libert, J., Kenyon, K. R., Hanninen, L. A. & Caspers-Velu, L.: Retinal toxicity of intravitreal gentamicin. An electron microscopic study. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 25, 564-572 (1984).
- 23) 瀬川雄三・大久保裕史・西山敬三：Tobramycin の家兎眼に対する細胞毒性について。透過並びに走査電顕的研究。眼科臨床医報, 77, 1787-1792 (1983).
- 24) Barza, M., Baum, J. & Kane, A.: Inhibition of antibiotic activity in vitro by synthetic melanin. Antimicro. Agents Chemother., 10, 569-570 (1976).
- 25) Garcia, R. I., Szabo, G. & Fitzpatrick, T. B.: Molecular and cell biology of melanin. p124-147, In K. M. Zinn & M. F. Marmor (eds.), The Retinal Pigment Epithelium, Harvard University Press, England, 1979.
- 26) Hayasaka, S.: Lysosomes and the eye, p421-441, In J. T. Dingle, R. T. Dean & W. Sly (eds.), Lysosomes in Biology and Pathology, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1984.
- 27) Zinn, K. M. & Benjamin-Henkid, J. V.: Anatomy of the human retinal pigment epithelium. p3-31, In K. M. Zinn & M. F. Marmor (eds.), The Retinal Pigment Epithelium, Harvard University Press, England, 1979.
- 28) 鳥崎真人・望月清文：網膜におよぼす抗生物質の影響。In vivo ERG による検討。ゲンタマイシンおよびリラシリン。昭和 60 年度日本臨床視覚電気生理学学会，倉敷，昭和 60 年 11 月 23 日。
- 29) Peyman, G. A., Spitznas, M. & Straatsma, B. R.: Peroxidase diffusion in the normal and photo-coagulated retina. Invest. Ophthalmol., 10, 181-189 (1971).
- 30) Sanders, W. E. Jr. & Sanders, C. C.: Toxicity of antibacterial agents. Mechanism of action on mammalian cells. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 19, 53-83 (1979).
- 31) Weinstein, L.: Antimicrobial agents. Streptomycin, gentamicin and other aminoglycosides. In L. S. Goodman & A. Gilman (eds.), The Pharmacological Basis of Therapeutics, Macmillan Publishing, New York, 1970.
- 32) Echeverria, P., Fina, D., Norton, S. & Smith, A. L.: Ototoxicity of gentamicin. Clinical experience in a children's hospital. Chemotherapy, 24, 267-271 (1978).
- 33) Maffei, L. & Fiorentini, A.: Electroretinographic responses to alternating gratings before and after section of the optic nerve. Science, 211, 953-955 (1981).
- 34) Honda, Y.: Studies on electrical activities of the mammalian retina and optic nerve in vitro. I Factors affecting activities of the retina. 日眼, 73, 1865-1899 (1949).
- 35) 高橋捷允・長山理三郎・鈴木一成：家兎の剝離網膜からの電位誘導について。日眼, 76, 868-876 (1972).
- 36) Ba Huy, P. T., Manuel, C. & Meulemans, A.: p81-97, Kinetics of aminoglycoside antibiotics in perilymph and endolymph in animals. In S. A. Lerner, G. J. Matz & J. E. Hawkins, Jr. (eds.), Aminoglycoside Ototoxicity, Little Brown, Boston,

1981.

- 37) Watanabe, Y., Nakajima, R., Oda, R., Uno, M. & Naito, T.: Experimental study on the transfer of kanamycin to the inner ear fluids. *J. Osaka Med. Univ.*, **21**, 257-263 (1971).
- 38) Sato, K.: Evaluation of cochlear toxicity of aminoglycoside antibiotics in guinea pigs by scanning electron microscopy. *Clin. Therapeutics*, **5**, 488-494 (1983).
- 39) Sato, K., Saito, T. & Matsuhira, T.: Comparative study by scanning electron microscopy on vestibular toxicities of dibekacin, ribostamycin and other aminoglycoside antibiotics in guinea pigs. *Int. J. Clin. Pharm. Ther. Toxicol.*, **21**, 109-114 (1983).
- 40) Sato, K.: Ototoxicity of aminoglycoside antibiotics in animal study. *Oto-Rhino-Laryngo.*, **29**, 145-150 (1983).
- 41) 井本浩二: 家兎におけるゲンタマイシン脳脊髄液内投与時の内耳毒性に関する研究. *耳鼻臨床*, **78**, 703-723 (1985).
- 42) 豊田弥八郎: アミノ配糖体系抗生物質による内耳障害様式に関する実験的研究. *耳鼻臨床*, **67**, 481-494 (1974).
- 43) Hawkins, J. E. Jr. & Johnsson, L. G.: p175-195, Histopathology of cochlear and vestibular ototoxicity in laboratory animals. In S. A. Lerner, G. J. Matz & J. E. Hawkins, Jr. (eds.), *Aminoglycoside Ototoxicity*, Little Brown, Boston, 1981.
- 44) Wersall, J.: p197-213, Structural damage to the organ of corti and the vestibular epithelia caused by aminoglycoside antibiotics in the guinea pigs. In S. A. Lerner, G. J. Matz & J. E. Hawkins, Jr. (eds.), *Aminoglycoside Ototoxicity*, Little Brown, Boston, 1981.
- 45) Peyman, G. A., Nelsen, P. & Bennett, T. O.: Intravitreal injection of kanamycin in experimentally induced endophthalmitis. *Canad. J. Ophthalmol.*, **9**, 322-327 (1974).
- 46) Bennett, T. O. & Peyman, G. A.: Toxicity of intravitreal aminoglycosides in primates. *Canad. J. Ophthalmol.*, **9**, 475-478 (1974).
- 47) Palimeris, G., Moschos, M., Chimonidou, E., Panagakakis, E., Andreanos, D. & Smirnoff, T.: Intravitreal injection of gentamicin. Experimental findings. *Docum. Ophthalmol. Proc. Series* **15**, 45-52 (1978).
- 48) Peyman, G. A., May, D. R., Ericson, E. S. & Apple, D.: Intracocular injection of gentamicin. Toxic effects and clearance. *Arch. Ophthalmol.*, **92**, 42-47 (1974).
- 49) Peyman, G. A., Paque, J. T., Meisels, H. I. & Bennett, T. O.: Postoperative endophthalmitis. A comparison of methods for treatment and prophylaxis with gentamicin. *Ophthalmic Surg.*, **6**, 45-55 (1975).
- 50) 米村大蔵・河崎一夫・望月清文・鳥崎真人: 網膜におよぼす硫酸ゲンタマイシンの影響. 家兎 in vivo ERG による検討. *日眼*, **89**, 1039-1045 (1985).
- 51) 輪島良平・岡本 剛・鳥崎真人・河崎一夫・米村大蔵: 硝子体灌流液中のゲンタマイシンが網膜に及ぼす影響. ウサギ in vivo ERG による検討. *眼紀*, **36**, 1783-1787 (1985).
- 52) 島田宏之: 硝子体手術に関する基礎的研究. その1 家兎眼網膜に及ぼす影響に関する基礎的研究. *眼紀*, **33**, 878-890 (1982).
- 53) Cunha-Vaz, J. G. & Maurice, D. M.: The active transport of fluorescein by the retinal vessels and the retina. *J. Physiol.*, **191**, 467-486 (1967).
- 54) 森田嘉樹: 摘出家兎網膜 ERG に対する薬物の影響. *日眼*, **75**, 206-213 (1971).
- 55) Negi, A., Honda, Y. & Kawano, S.: Effects of intraocular irrigating solutions on the electroretinographic b-wave. *Am. J. Ophthalmol.*, **92**, 28-37 (1981).
- 56) 大庭省三・本田孔士: 眼杯灌流による網膜の形態学的変化について. 生理食塩水, 重炭酸イオン含有液を用いて. *眼紀*, **35**, 883-888 (1984).
- 57) 今泉亀撤・田沢 豊・米良博量・大塚忠弘・今泉博雄: 牛摘出灌流眼 ERG と酸素, 灌流液の検討. *眼紀*, **25**, 481-484 (1974).
- 58) 小森樹夫・魚谷 純・山名忠己・藤井正満・市頭教治: 硝子体手術の実験的研究. (第 I 報) 家兎眼 ERG に及ぼす影響. *眼紀*, **34**, 2597-2602 (1983).
- 59) Moorhead, L. C., Redburn, D. A., Merritt, J. & Garcia, C. A.: The effects of intravitreal irrigation during vitrectomy on the electroretinogram. *Am. J. Ophthalmol.*, **88**, 239-245 (1979).
- 60) Forster, R. K., Abbott, R. L. & Gelender, H.: Management of infectious endophthalmitis. *Ophthalmology*, **87**, 313-319 (1980).
- 61) Forster, R. K., Zachary, I. G., Cottingham, A. J. Jr. & Norton, E. W. D.: Further observations on the diagnosis, cause and treatment of endophthalmitis. *Am. J. Ophthalmol.*, **81**, 52-56

(1976).

- 62) Eichenbaum, D. M., Jaffe, N. S., Clayman, H. M. & Light, D. S.: Pars plana vitrectomy as a primary treatment for acute bacterial endophthalmitis. *Am. J. Ophthalmol.*, **86**, 167-171 (1978).
- 63) 井上幸次・松本聖子・斎藤喜博・西川憲清・田野保雄・真鍋禮三: 術後眼内炎に対する硝子体切除術. *眼紀*, **34**, 536-542 (1983).
- 64) Peyman, G. A., Carroll, C. P. & Raichand, M.: Prevention and management of traumatic endophthalmitis. *Ophthalmology*, **87**, 320-324 (1980).
- 65) Harris, G. S. & Chow, A. W.: Management of infective endophthalmitis by pars plana vitrectomy. *Can. J. Ophthalmol.*, **17**, 194-198 (1982).
- 66) Rowsey, J. J., Newsom, D. L., Sexton, D. J. & Harms, W. K.: Endophthalmitis. Current approaches. *Ophthalmology*, **89**, 1055-1066 (1982).
- 67) Deutsch, T. A. & Goldberg, M. F.: Painless endophthalmitis after cataract surgery. *Ophthalmic Surg.*, **15**, 837-840 (1984).
- 68) 花房 晶・臼井正彦・宮沢文明・村松隆次・岩下正美・鈴木弘隆: 術後眼内炎に対する Open-sky vitrectomy と抗生物質溶液による硝子体置換. *あたらしい眼科*, **1**, 717-722 (1984).
- 69) Puliafito, C. A., Baker, A. S., Haaf, J. & Forster, C. S.: Infectious endophthalmitis. Review of 36 cases. *Ophthalmology*, **89**, 921-929 (1982).
- 70) Majerovics, A. & Tanenbaum, H. L.: Endophthalmitis and pars plana vitrectomy. *Can. J. Ophthalmol.*, **19**, 25-28 (1984).
- 71) 中沢昭三・佐藤 清・吉田 勇・竿下 子・能勢恵美子・福井正憲: 新しいアミノ配糖体抗生物質 KW-1062 に関する細菌学的評価. *Chemotherapy*, **25**, 1828-1837 (1977).
- 72) 近藤正熙: *Pseudomonas aeruginosa* に対する cefsulodin, cefoperazone, piperacillin および gentamicin の最小発育阻止濃度 (MIC) および最小殺菌濃度 (MBC) について. *基礎と臨床*, **16**, 322-324 (1982).
- 73) 林 英之・百枝 栄・京野真三・清沢宗晃: 筋肉内投与されたゲンタマイシンの硝子体切除眼硝子体腔中への移行に関する実験的研究. *眼紀*, **34**, 2305-2308 (1983).

**Effects of Antibiotics on the In Vitro ERG (III) Investigation of Aminoglycosides on the Albino Rabbit Eye-Cup** Junji Ohnogi, Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med. Soc., **95**, 491—504 (1986)

**Key words:** Kanamycin monosulfate, gentamicin sulfate, albino rabbit, eye-cup, electroretinogram, minimum inhibitory concentration

### Abstract

This study describes the effects of kanamycin monosulfate (KM) and gentamicin sulfate (GM) on the retinal activity of the albino rabbit. The posterior half of the eye-cup, consisting of the retina, choroid and sclera, was mounted between two chambers (the vitreal and scleral chambers). The bathing solution, in which the antibiotics were dissolved, was maintained at  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  and pH 8.0~8.2. An in vitro electroretinogram (ERG) was used to study the a-wave, b-wave, oscillatory potentials (OPs) and c-wave. The scotopic and photopic b-waves and OPs were unchanged by 0.1 mM KM. The photopic b-wave and OPs were slightly suppressed by 0.4 mM. These changes were reversible. The scotopic and photopic b-waves and OPs were not deteriorated by 23  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (approximately 0.05 mM) GM. The photopic b-wave and OPs were slightly suppressed by 46  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (approximately 0.1 mM) GM. These changes were mostly reversible. The minimum concentration affecting the ERG was tentatively defined as the mean of the minimum concentration needed to change the ERG and the maximum concentration which did not induce discernible changes. The minimum concentrations affecting the ERG for KM and GM were 0.25 mM

(approximately 150  $\mu\text{g/ml}$ ) and 35  $\mu\text{g/ml}$  (approximately 0.075 mM) respectively. The minimum concentration affecting the ERG for KM was higher than its minimum inhibitory concentration against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae*. The minimum concentration affecting the ERG for GM was higher than its minimum inhibitory concentration against *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*.